

6. Производство лекарственных средств. Применение статистических методов валидации: ТКП 438 – 2012 (02041) – Введ. 01.03.2013. – Минск: Департамент фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 2012. – 27 с.

7. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3-х т. / под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: Победа. – 2008. – Т. 3: Контроль качества фармацевтических субстанций. – С. 699 – 701.

#### Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,  
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,  
УО «Витебский государственный  
ордена Дружбы народов  
медицинский университет»,  
кафедра промышленной технологии  
с курсом ФПК и ПК,  
тел. раб.: 8 (0212) 37-00-13,  
ysheryakova@mail.ru,  
Хишова О. М.

Поступила 31.07.2015 г.

С. Э. Ржеусский, В. В. Кугач, В. И. Фадеев

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОВИАРГОЛА В СУППОЗИТОРИЯХ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

*В статье представлены результаты разработки и валидации методики роданометрического определения повияргола в суппозиториях.*

*Выбрана среда растворения и способ интенсификации процесса, установлен срок годности титранта и рабочего раствора.*

*Разработанная методика валидирована по показателям: избирательность, линейность (коэффициент корреляции в уравнении линейной регрессии составляет 0,9998, отклонения найденных концентраций от теоретически рассчитанного содержания не превышают 0,67%), повторяемость, внутрилабораторная прецизионность (относительное стандартное отклонение для одного аналитика составляет 0,895%, для второго – 0,901%, а для двух испытаний, проведенных в разные дни – 0,908%), правильность (правильность определения повияргола в суппозиториях находилась в диапазоне 99,37–101,30%; среднее значение составило 100,21%). Установлен диапазон применения методики, который составляет 70–130% от номинального содержания повияргола в суппозитории.*

*Ключевые слова: суппозитории, наночастицы серебра, повияргол, титрование, валидация.*

### ВВЕДЕНИЕ

Перспективным направлением в медицине является разработка новых лекарственных средств антибактериального действия [1]. Потребность в них постоянно увеличивается в связи с повышением бактериальной резистентности к существующим лекарственным средствам [2].

Витебским государственным медицинским университетом, совместно с ООО «Рубикон», разрабатывается новое лекарственное средство, представляющее собой суппозитории с повиярголом, обладающим антимикробной и ранозаживляющей активностью. В качестве фармацевтической субстанции в суппозиториях используется

металл-полимерная композиция, содержащая высокодисперсное металлическое серебро.

Одним из этапов создания нового лекарственного средства является разработка методики анализа действующих веществ, входящих в его состав. Теме анализа наночастиц посвящена большая доля современных публикаций по нанотехнологии [3]. Для определения количественного содержания серебра предлагаются электрохимический [3, 4], рентгенофлуоресцентный [5], потенциометрический [6] и даже спектрофотометрический методы анализа [7]. Однако для определения серебра в лекарственном средстве в наибольшей степени подходит простой и надежный метод

роданометрического титрования, описанный в Государственной фармакопее Республики Беларусь в качестве метода количественного определения серебра протеината (протаргол) и серебра коллоидного для наружного применения (колларгол) [8].

Целью настоящей работы была разработка и валидация методики количественного определения повияргола в суппозиториях.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали опытно-промышленные серии суппозитория с повиярголом (НД №1781/13).

Опытно-промышленные серии суппозитория готовили по следующей технологии: в смесителе на водяной бане при температуре 60–65°C расплавляли компоненты суппозиторной основы, охлаждали ее до температуры 40–42°C и добавляли повияргол. Смесь перемешивали в течение 15 мин при помощи диспергатора Ultraturrax T50 при скорости вращения мешалки 6000 оборотов в минуту. Готовую суппозиторную массу разливали в одноразовые ячейки и запаивали их при помощи аппарата Dott Bonapace 8C. Охлаждение готовых суппозитория проводили при температуре 15°C в течение 15 минут [9].

Количественное содержание серебра в фармацевтической субстанции и суппозиториях определяли с помощью роданометрического титрования. Для перевода наночастиц серебра в ионную форму использовали азотную кислоту.

Для приготовления 0,1М раствора аммония тиоцианата 7,612 г аммония тиоцианата *P* растворяли в воде *P* и доводили до объема 1000,0 мл этим же растворителем. Для установления титра раствора к 20,0 мл 0,1М раствора серебра нитрата прибавляли 25 мл воды *P*, 2 мл кислоты азотной разведенной *P*, 2 мл раствора железа (III) аммония сульфата *P2* и титровали приготовленным раствором аммония тиоцианата до появления красновато-желтого окрашивания [10].

Для приготовления 0,01М раствора аммония тиоцианата в мерную колбу вместимостью 100 мл вносили 10 мл 0,1М раствора аммония тиоцианата и доводили до метки водой *P*.

Для определения условий проведения пробоподготовки изучали влияние приро-

ды растворителя (вода очищенная и азотная кислота), воздействия ультразвука и степени измельчения суппозитория.

Методику определения повияргола в суппозиториях валидировали по показателям: специфичность, линейность, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность, правильность и диапазон применения, согласно ТКП 432-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний [11] и Государственной фармакопее Республики Беларусь [10].

Специфичность методики изучали, титруя раствор, полученный в процессе пробоподготовки суппозитория, и раствор плацебо, содержащий только вспомогательные вещества.

Определение линейности методики проводили для 8 уровней содержания повияргола: 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130% от его номинального количества (90 мг).

Повторяемость изучали на 6 образцах суппозитория с повиярголом. Для определения внутрилабораторной прецизионности 6 суппозитория той же серии были проанализированы другим аналитиком в другой день.

Правильность изучали на модельных растворах, содержащих повияргол в количестве 70%, 100% и 130% от номинального содержания.

Диапазон применения устанавливали исходя из того, что валидируемая методика имеет приемлемую степень линейности, прецизионности и правильности при анализе образцов с количественным содержанием повияргола в диапазоне валидируемой методики. Использовали результаты из следующих тестов:

- избирательность;
- линейность;
- прецизионность;
- правильность.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью компьютерной программы Microsoft Excel.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Определение условий проведения пробоподготовки суппозитория.** На первом этапе были определены условия проведения пробоподготовки суппозитория. Показано, что суппозитории повияргола быстрее растворялись в воде *P*, чем в кислоте азотной *P* ( $p < 0,05$ ). Определено,

что воздействие ультразвука позволяет в 5,9–6,0 раз сократить время растворения суппозитория. Установлено, что среда растворения и воздействие ультразвука статистически значимо не влияли на высвобождение повияргола из лекарственной формы ( $p > 0,05$ ) (таблица 1).

Следовательно, пробоподготовку необходимо осуществлять следующим образом: в химический стакан вместимостью 100 мл поместить 1 суппозиторий, прибавить 24 мл воды *P* и воздействовать ультразвуком в течение 15 минут. К полученному раствору необходимо прибавить 6 мл кислоты азотной *P*.

Таблица 1 – Исследование вариантов пробоподготовки суппозитория повияргола ( $n=3$ )

Среда растворения	Целый суппозиторий		Разделение суппозитория на 5–7 частей		Ультразвук	
	Время растворения, мин	Содержание повияргола, %	Время растворения, мин	Содержание повияргола, %	Время растворения, мин	Содержание повияргола, %
Вода очищенная, 24 мл	65,3±3,5	99,8±1,0	45,3±5,5	99,8±1,0	11,7±0,6	99,8±1,0
Кислота азотная <i>P</i> , 30 мл	81,0±5,6	100,3±1,0	57,7±6,4	99,8±1,0	13,3±0,6	99,8±1,0

**Определение устойчивости рабочего раствора.** Была изучена стабильность растворов, получаемых из суппозитория повияргола в процессе пробоподготовки (рисунок 1). За 100% была принята номинальная концентрация повияргола, согласно нормативной документации (90 мг).

Определено, что водные растворы, полученные из суппозитория повияргола в процессе пробоподготовки, остаются стабильными в течение 3 часов ( $p = 0,423$  через 3 часа и  $p = 0,038$  через 4 часа), в то время как в растворе кислоты азотной уже через 2 часа наблюдается статистически значимое падение концентрации ( $p = 0,1835$  через 1,5 часа и  $p = 0,0378$  через 2 часа).

**Определение стабильности раствора титранта.** В результате исследования стабильности раствора аммония тиоцианата установлено, что при его хранении без доступа света он остается стабильным в течение 20 суток (снижение концентрации к 20 суткам эксперимента статистически не достоверно,  $p > 0,05$ ). При хранении раствора на свету изменение концентрации происходит уже через 15 суток ( $p = 0,013$ ) (рисунок 2).

**Определение специфичности методики.** Показано, что разработанная методика определения повияргола является специфичной, поскольку при добавлении 1 капли титранта раствор плацебо сразу менял окраску. При добавлении титранта к раствору, полученному в процессе пробоподготовки суппозитория, изменение окраски происходило при прибавлении 5,7–5,8 мл.

**Определение линейности методики.**

При исследовании линейности установлено, что график зависимости объема титранта от массы навески представляет собой прямую линию. Коэффициент корреляции в уравнении линейной регрессии составляет 0,9998 (при норме не менее 0,999), пересечение с осью  $Y - 0,25\%$  (при критерии приемлемости не более 3%) (рисунок 3).

Показано, что отклонения найденных концентраций повияргола от теоретически рассчитанного содержания не превышают 0,67% (таблица 2).

**Определение повторяемости методики.** Определено, что относительное стандартное отклонение в тесте повторяемость составляет 0,895% (критерий приемлемости не более 1%). При исследовании внутрилабораторной прецизионности значение данного показателя для второго аналитика составило 0,901%, а для двух испытаний, проведенных в разные дни – 0,908% (критерий приемлемости не более 2%) (таблица 3).

**Определение правильности методики.** Показано, что правильность определения повияргола в суппозиториях находилась в диапазоне 99,4–101,3%, а среднее значение составляло 100,2% (при норме  $100 \pm 1\%$ ) (таблица 4).

Таким образом, установлен диапазон применения методики количественного определения повияргола в суппозиториях в пределах 70–130% от его номинального содержания, поскольку в этом диапазоне разработанная методика имеет приемлемую степень линейности, прецизионности и правильности.

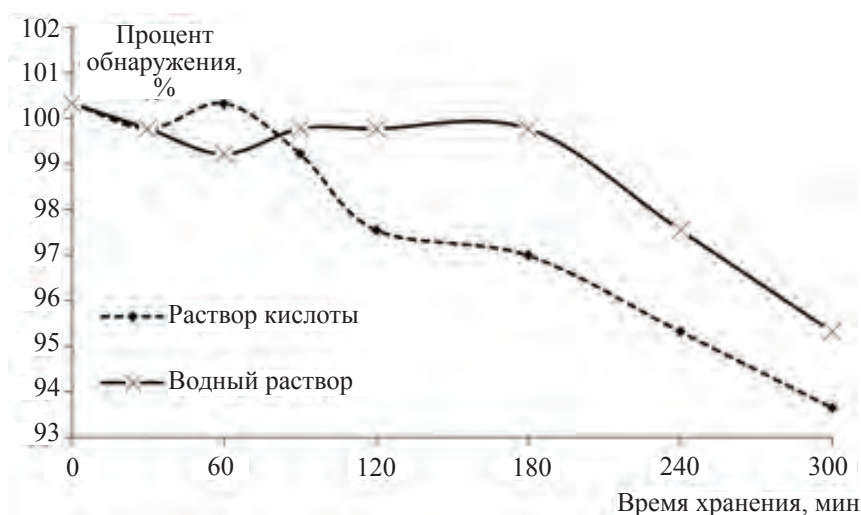


Рисунок 1 – Влияние среды растворения на стабильность растворов, получаемых из суппозитория с повидарголом в процессе пробоподготовки (n = 3)

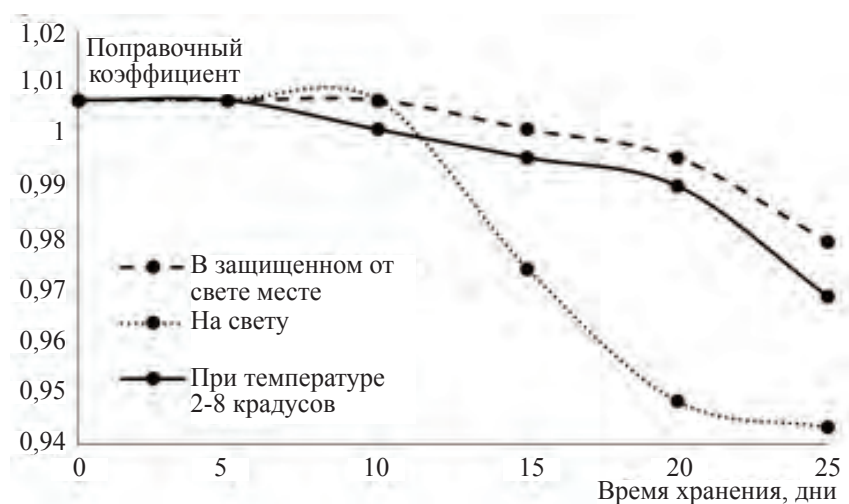


Рисунок 2 – Влияние условий хранения на стабильность 0,01М раствора аммония тиоцианата

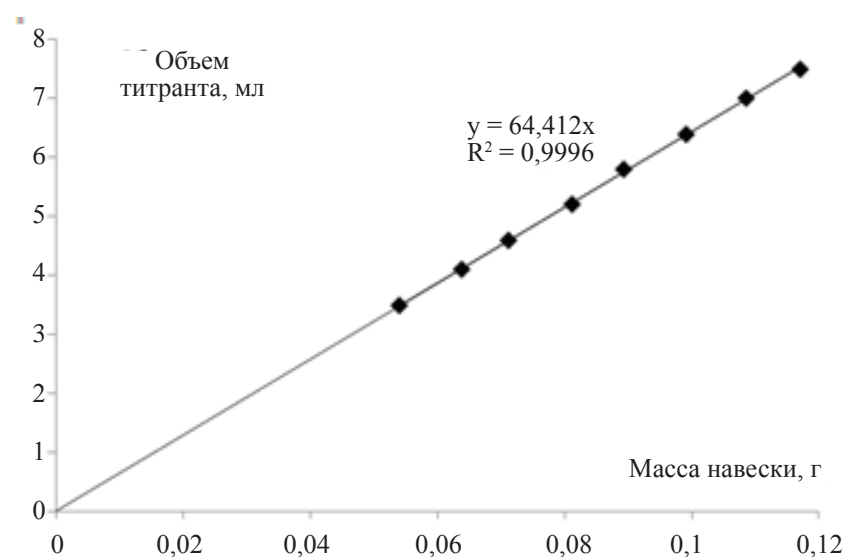


Рисунок 3 – Зависимость объема титранта, пошедшего на титрование, от массы навески

Таблица 2 – Результаты исследования линейности методики количественного определения повиаргола в суппозиториях

Концентрация повиаргола от номинального содержания, %	Рассчитанное содержание повиаргола, мг	Полученное содержание повиаргола в образце, мг	Отклонение точек от калибровочной прямой, %
60	0,0541	0,0543	0,35
70	0,0639	0,0636	0,45
80	0,0712	0,0713	0,20
90	0,0812	0,0807	0,67
100	0,0894	0,0900	0,63
110	0,0991	0,0992	0,17
120	0,1085	0,1086	0,07
130	0,1171	0,1163	0,66

Таблица 3 – Результаты исследования прецизионности методики количественного определения повиаргола в суппозиториях

	№ определения					
	1	2	3	4	5	6
Аналитик №1						
Масса навески, мг	89,4	89,8	89,8	91,3	90,4	90,1
Объем титранта, мл	5,80	5,80	5,70	5,70	5,80	5,80
Содержание повиаргола, мг	90,0	90,0	88,4	88,4	90,1	90,1
RSD аналитика №1, %	0,895					
Аналитик №2						
Масса навески, мг	90,5	89,9	89,2	91,0	90,7	90,3
Объем титранта, мл	5,80	5,70	5,70	5,80	5,70	5,70
Содержание повиаргола, мг	90,0	88,4	88,4	90,0	88,4	88,4
RSD аналитика №2, %	0,901					
RSD между результатами двух аналитиков, %	0,908					

Таблица 4 – Результаты изучения правильности методики количественного определения повиаргола в суппозиториях

Образец	Масса навески образца повиаргола, мг	Объем титранта, мл	Процент восстановления (98,0–102,0%)
70%	0,0718	4,60	99,4
	0,0718	4,60	99,4
	0,0712	4,60	100,2
100%	0,09	5,80	100,0
	0,089	5,80	101,1
	0,0898	5,80	100,2
130%	0,1179	7,70	101,3
	0,1174	7,60	100,4
	0,1179	7,60	100,0

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате работы выбраны условия для пробоподготовки суппозитория повияргола: вода в качестве среды растворения и ультразвук как средство интенсификации процесса растворения. Установлено, что раствор титранта остается стабильным

в течение 20 суток при его хранении без доступа света.

Определено, что валидируемая методика по всем показателям соответствует требованиям ТКП и Государственной фармакопеи Республики Беларусь. Коэффициент корреляции в уравнении линейной регрессии составляет 0,9998, отклонения



найденных концентраций от теоретически рассчитанного содержания не превышают 0,67%. Относительное стандартное отклонение в тесте повторяемость для одного аналитика составляет 0,895, для второго – 0,901%, а для двух испытаний, проведенных в разные дни – 0,908%. Правильность определения повияргола в суппозиториях находилась в диапазоне 99,4–101,3%, среднее значение составляло 100,21%.

Определен диапазон применения методики, составляющий 70–130% от номинального содержания повияргола в суппозиториях.

### SUMMARY

S. E. Rzhеussky, V. V. Kuhach, V. I. Fadeev  
QUANTIFYING OF POVIARGOL IN  
SUPPOSITORIES

The article presents the results of the development and validation of methods of titrimetric determination of Poviargol in suppositories.

Dissolution medium and a method of intensifying the process were selected, the shelf life of the titrant and the working solution was determined.

The developed method was validated in terms of: selectivity, linearity (correlation factor in the equation of linear regression is 0,9996, deviation of found concentrations from the theoretically calculated content does not exceed 0,67%), repeatability, intermediate precision (relative standard deviation for one analyst is 0,895%, for the second – 0,901%, and for the two tests carried out on different days – 0,908%), accuracy (accuracy of the determination of Poviargol in suppositories was in the range 99,37–101,30%, and the average value was 100,21%). The range of application of a technique, which is 70–130% of the nominal content of Poviargol in suppositories, was determined.

Keywords: suppositories, silver nanoparticles, Poviargol, titration, validation.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Bashar, H. The antibiotics market / H. Bashar // Drug Discovery. – 2010. – С. 675–676.

2. Колбин, А. С. Исследования в области новых антибактериальных средств – есть ли перспективы? / А. С. Колбин, С. В. Сидоренко, Ю. Е. Балыкина // Педиатрическая фармакология. – 2010. – Том 7. – С. 12–15.

3. Разработка вольтамперометрического определения железа и серебра для оценки степени деградации наночастиц на их основе / Г. Б. Слепченко [и др.] // Известия Томского политехнического университета. – 2011. – №3. – С. 46–49.

4. Электрохимический метод определения концентрации наночастиц серебра и золота в живых клетках / Ю.А. Сунцова [и др.] // Ученые записки казанского университета. – 2012. – Том 153, кн. 3. – С. 105–115.

5. Юсупов, Р. А. Методика выполнения измерений концентрации серебра в технологических водах предприятия / Р. А. Юсупов, С. А. Бахтеев, И. Р. Гатиятуллин // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – №19. – С. 306–308.

6. Шумар, С. В. Потенциометрическое определение серебра с использованием математической модели процесса / С. В. Шумар // Известия Томского политехнического университета. – 2012. – №3. – С. 116–119.

7. Карпов, С. Оптические эффекты в металлических нанокolloидах / С. Карпов // Фотоника. – 2012. – №2. – С. 40–51.

8. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / М-во здравоохранения. Респ. Беларусь, УП “Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении”; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно; Типография “Победа”, 2009. – 728 с.

9. Ржеусский, С. Э. Разработка вагинальных суппозиториях с наночастицами серебра / С. Э. Ржеусский, В. В. Кугач // Вестник фармации. – 2015. – №2. – С. 40–45.

10. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2-х т. / под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: Победа, 2012. – Т. 1: Общие методы контроля лекарственных средств. – 1220 с.

11. ТКП 432-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний.

### Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,  
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,  
УО «Витебский государственный  
ордена Дружбы народов  
медицинский университет»,  
кафедра организации и экономики  
фармации с курсом ФПК и ПК,  
тел. раб.: 8 (0212) 60-14-08,  
Ржеусский С. Э.

Поступила 31.07.2015 г.